



MINISTERIO DE MARINA

El contenido en carbono orgánico en los
sedimentos de la ría de Vigo. Algunos datos
sobre la relación carbono-nitrógeno
por ANTONIO FERNÁNDEZ DEL RIEGO

Algunas observaciones acerca de la deter-
minación del contenido lipídico en harinas
de pescado
por D. MONTEQUI y M.^A D. GARCÍA PINEDA

BOLETÍN DEL
INSTITUTO ESPAÑOL
DE OCEANOGRAFIA

N.^{os} 78 y 79

MADRID

30-VI-1956

ULTIMOS NUMEROS PUBLICADOS

- 38.—Campana del MALASPINA en enero de 1950 en aguas del Sáhara, desde Punta Durnford a Cabo Barbas.—Registro de operaciones.
- 39.—M.^a Dolores GARCÍA PINEDA: «Efectos del lavado previo en la extracción de componentes útiles de las algas pardas».
- 40.—M.^a Jesús DEL VAL y Dominica MONTEQUI: «Sobre el aislamiento de los componentes glucídicos de las algas pardas».
- 41.—Buenaventura ANDREU: «Consideraciones sobre el comportamiento del ovario de sardina (*Sardina pilchardus* Walb.) en relación con el proceso de maduración y de freza».
- 42.—Miguel OLIVER: «La sardina de la costa noroeste española en 1948 y 1949 (Estudio biométrico y biológico)».
- 43.—Rafael LÓPEZ COSTA: «Sobre la determinación del nitrógeno nítrico en el agua de mar. I. La resorcina como reactivo de los nitratos».
- 44.—A. FERNÁNDEZ DEL RIEGO: «Determinación del carbónico de los fondos de la Ría de Vigo. Cálculo del carbonato disuelto y consecuencias geobiológicas».
- 45.—Angeles ALVARIÑO: «Incrustaciones marinas».
- 46.—J. ARAVIO-TORRE y A. ARÉVALO: «Estudio de los wolframatos como agentes inhibidores de la corrosión».
- 47.—R. MARGALEF: «Estudio sumario del fitoplancton de la Ría de Vigo (1948-1950)».
- 48.—M. OLIVER y M. MASSUTÍ: «El raó, *Xyrichthys novacula* (Fam. Labridae). Notas biológicas y biométricas».
- 49.—F. LOZANO CABO: «Nota preliminar sobre la biometría, biología y anatomía general del *Notacanthus bonapartei* Risso».
- 50.—E. SECO SERRANO: «Velocidad vertical de propagación del sonido en el Mar de Alborán. Aplicación a la corrección de eco-sondas».
- 51.—G. COLOM: «Foraminíferos de las costas de Galicia (Campanas del Xauen en 1949 y 1950)».
- 52.—Joaquín GÓMEZ DE LLARENA: «Observaciones sobre los sedimentos de las costas de Galicia (Campanas del «Xauen» en 1949 y 1950)», con un Apéndice de Josefa PÉREZ MATEOS, sobre «Análisis mineralógico de algunas muestras».
- 53.—A. RODRÍGUEZ DE LAS HERAS y M. C. MÉNDEZ ISLA: «Contribución a los estudios químicos sobre pescados españoles».
- 54.—José M.^a NAVAZ y F. de P. NAVARRO: «Nuevas observaciones sobre la sardina del Golfo de Vizcaya (1951) y consideraciones sobre la estadística de pesca».
- 55.—R. FERNÁNDEZ y F. DE P. NAVARRO: «La sardina de Santander. Observaciones en 1950 y 1951».
- 56.—M. OLIVER y F. DE P. NAVARRO: «Nuevos datos sobre la sardina de Vigo (febrero de 1950 a marzo de 1952)».
- 57.—Emina BARDÁN y F. DE P. NAVARRO: «Estudios sobre la sardina de

(Sigue en tercera página de la cubierta.)

EL CONTENIDO EN CARBONO ORGANICO EN LOS
SEDIMENTOS DE LA RIA DE VIGO. ALGUNOS DATOS
SOBRE LA RELACION CARBONO - NITROGENO

EL CONTENIDO EN CARBONO ORGANICO EN LOS SEDI- MENTOS DE LA RIA DE VIGO. ALGUNOS DATOS SOBRE LA RELACION CARBONO-NITROGENO

por

ANTONIO FERNÁNDEZ DEL RIEGO

(Químico del Instituto Español de Oceanografía.)

La denominación de humus marino para la materia orgánica resistente ya consolidada en un sedimento, se debe a Waksman (1), a quien le fué sugerida por su semejanza con el complejo orgánico de las tierras de labor.

Las fuentes de producción de esta materia orgánica responden a los tipos que siguen:

a) Origen terrígeno:

Las aguas de los ríos y arroyos y el agua de lluvia que cae en las vertientes de una cuenca, que directa o indirectamente conduzca al mar, aportan grandes cantidades de restos vegetales sobre todo durante los períodos de inundaciones. Estos restos orgánicos flotan y, al llegar al mar, son arrastrados por las corrientes hasta que embebidos y parcialmente descompuestos se hunden y depositan. Estos restos pueden ser troncos o árboles enteros, ramas, hojas y otros residuos.

b) Origen bentónico:

Diversas plantas bentónicas de tipo superior como zosteras, contribuyen con algas de gran diversidad a la formación de potentes masas de materia orgánica. Estas son arrancadas durante las tormentas, flotan algún tiempo y luego se depositan. La materia orgánica difundida de los lechos de algas, se encuentra disuelta oseudodisuelta constituyendo el llamado "algón", y su cantidad varía con el estado de agitación de las aguas provocado por las mareas o por el viento. Su medida varía de valores mínimos durante las mareas vivas a valores máximos en mareas muertas. Durante tempestades, fuerte

viento y agitación del mar, aumenta el contenido de materia orgánica en el agua, para disminuir en los períodos de calma (2).

c) Origen planetónico:

El zooplancton en verano y el fitoplancton en primavera suministran enormes contingentes de materia orgánica, este es el origen exclusivo de la materia orgánica de la región oceánica, si por cualquier causa el fitoplancton sufre quebranto en los órganos de suspensión, o es arrastrado fuera de la zona eufótica por una corriente descendente y muere por la imposibilidad de utilizar la fotosíntesis esencial para su vida. Al zooplancton también puede fallarle el mecanismo de flotación o morir por causas naturales y caer al fondo. El plancton puede mineralizarse durante su descenso a través de la columna de agua por oxidación directa, enzimática o bacteriana, sobre todo cuando la profundidad es mucha (plancton oceánico). La fracción no mineralizada se deposita y puede transformarse en sedimento.

En ciertos parajes ocurren variaciones muy bruscas y acusadas de las condiciones hidrográficas que originan la mortandad en masa del plancton y, por lo tanto, de la población nectónica que vive a sus expensas, tal es el caso de la irrupción de aguas cálidas, de hasta 23° C. de temperatura en la región de la corriente de Benguela en el Africa Sur-occidental, cuando los vientos de componente sur, que producen upwelling y mantienen en la superficie aguas antárticas frías casi todo el año, son sustituidas por aguas del Océano Atlántico Subtropical, que traen los vientos de componente norte acompañados de nieblas o lluvias. Esto ocurre durante los meses de verano en el hemisferio sur (diciembre, enero y febrero), elevándose la temperatura, a veces, desde 13° a 23°. Sin embargo, la elevación es con frecuencia solamente de 5° a 6°; esta elevación lleva también aparejada la de salinidad. El plancton muerto y la cantidad enorme de peces que se alimenta de este plancton (*sardinops ocellata*, *trachurus trachurus*) mueren y contribuyen a aumentar el acervo de humus marino de estos fondos.

El plancton venenoso, especies de *gymnodinium* y *glenodinium*, es otra de las causas de mortandad de estos animales, así como el sulfhídrico arrancado de los cienos en condiciones meteorológicas determinadas. No sólo los peces, sino también las focas mueren por millares en tales circunstancias (3). En la Bahía de la Ballena, el olor a sulfhídrico puede percibirse a muchas millas de distancia.

Un caso análogo ocurre en la Costa del Perú con la corriente del "Niño", cuando irrumpe en la zona en que es dominante la corriente de Perú, la contracorriente Ecuatorial de aguas calientes y baja sa-

linidad. Esto ocurre con relativa frecuencia al penetrar hacia el sur esta última corriente, el sulfhídrico desprendido también invade la región en este caso (pintor del Callao) ennegreciendo la pintura de los barcos y edificios. La corriente del "Niño" produce asimismo con la muerte del plancton la del necton y de las aves marinas que viven a sus expensas.

Composición del humus marino

El complejo orgánico de un sedimento ha sido objeto de métodos de estudio para elucidar su composición química. Los procedimientos utilizados están fundados en el tratamiento sucesivo del cieno con reactivos diversos para separar fracciones de composición distinta. En cada una de éstas se determina su contenido en carbono con el fin de esclarecer su composición química. El tratamiento con álcalis altera la materia orgánica (4); es probable que se desprenda amoníaco en este tratamiento y carbónico de los ácidos poliurónicos. Los tratamientos con porciones sucesivas de disolventes neutros pudiera parecer más racional; sin embargo, Waksman llega a idénticas conclusiones utilizando cualquiera de ambos procedimientos, obteniendo de sus estudios el mismo factor de transformación para el paso de carbono orgánico a materia orgánica total, este valor es de 1,887 que corresponde a un 53 por 100 de C. en los dos casos.

En el estudio del humus marino se siguen los mismos métodos que los utilizados en el estudio de las tierras de labor y de las turbas.

Por tratamiento de la tierra con álcalis diluidos se separa la mayoría del humus (70-75 por 100) al estado de disolución (1). Adicionando a esta disolución un ácido mineral en exceso se produce un precipitado insoluble. La fracción obtenida se denomina ácido húmico en la bibliografía y alfa-humus por Waksman.

El ácido húmico sólo contiene 1-3 por 100 de cenizas, 55-58 por 100 de C. y 2, 5-3, 5 por 100 de N.

La fracción beta del humus contiene 65-80 por 100 de material inorgánico, silicato aluminico principalmente, y una pequeña parte de materia orgánica.

A tratamiento análogo ha sometido Waksman muestras análogas de cieno seco.

Con porciones sucesivas de NaOH al 4 por 100 y 15 libras de presión obtuvo un extracto, que acidificado con CIHI 1:1, precipitó un espeso sedimento de color oscuro que constituye la alfa-fracción.

Por neutralización del filtrado con NaOH al 40 por 100 hasta

pH4,8, obtuvo la fracción beta sub uno de color claro. El filtrado tratado por solución concentrada de cloruro cálcico, produce otro precipitado abundante, fracción beta sub dos, ligera de color. El precipitado obtenido de este último filtrado por tratamiento con alcohol etílico al 90 por 100 es de color marrón claro y lo denominó fracción gamma

Del análisis de cada una de estas fracciones deduce que la fracción alfa está constituida de un 27 por 100 de proteínas y 68,1 por 100 de materia orgánica no nitrogenada con un contenido en C. por 100 de 60,2 y 4,9 por 100 de cenizas, lo que es característico de los complejos lignínicos.

Las fracciones beta las deja sin ulterior consideración a causa de su bajo contenido en materia orgánica.

La fracción gamma es de naturaleza hidrocarbonada, lo que se deduce fácilmente de los datos analíticos. Conociendo la cantidad de fracción gamma en gramos y su riqueza en C. y N. (46,2 por 100 y 5,14 por 100 respectivamente), asumiendo que todo el N. se encuentra en forma proteínica o sus derivados, atribuyendo a estas sustancias un 16 por 100 de N. y 50 por 100 de C., se halla para la fracción no proteínica de la fracción gamma un contenido en C. de 43,6 por 100, lo que coloca a esta fracción entre los hidratos de carbono. El tratamiento de la fracción gamma con un ácido mineral caliente da lugar a la producción de sustancias reductoras. Si se hierve con CIH al 12 por 100 y se recoge el CO₂ desprendido sobre barita y titula por retorno el exceso de ésta, se pone en evidencia la existencia de gran cantidad de ácidos urónicos. Estos procederían de ciertos complejos de las algas entre ellos la algina.

Conocida la cantidad de materia orgánica extraída por el álcali y la composición en C. de cada una de las fracciones obtenidas, teniendo en cuenta la proporción en el todo de cada una de aquéllas, se viene a obtener un contenido de 53 por 100 de C. para la fracción extraída (70-75 por 100).

Un cálculo parecido verificado sobre las fracciones extraídas sucesivamente por tratamiento de un cieno seco con éter, alcohol, CIH al 2 por 100 y SO₄H₂ frío al 80 por 100, le lleva a idénticos resultados respecto al factor de transformación.

Este último procedimiento ha sido utilizado por Trask (4). Análogo procedimiento al de extracción con álcali primeramente reseñado lo fué por Bourcart y Boeuf (6).

Además de su contenido en ligninas y sus derivados, proteínas y

carbohidratos, principalmente polisacáridos y poliurónidos, existen en el humus marino grasas, ceras, pigmentos y resinas.

En la materia orgánica se ha comprobado la presencia de muchos metales Zn., Ag., B., Sn., Au., As. y otros. El Pb., por ser inhibidor del crecimiento, no se encuentra en los organismos en cantidades apreciables. Aunque la proporción de los metales en la materia viva, sea pequeña, puede sufrir en el proceso de envejecimiento de un sedimento un enriquecimiento progresivo que puede dar lugar a minerales diversos.

El proceso de sedimentación del humus:

Condiciones para la formación de un depósito cenagoso.—Solamente en algunos casos aislados como ciertos estanques interiores, se verifica el depósito de materia orgánica sin mezcla de materia mineral, tal es el caso de ciertos lagos de la zona de Moscú, donde el contenido de materia orgánica puede alcanzar el 90 por 100 en el sedimento. En estuarios, rías, fjords, mares interiores y en pleno océano, el depósito es doble: mineral-orgánico con predominio de la fracción mineral.

En el caso de sedimentación mixta, que es el de interés para nosotros, la materia orgánica asociada a partículas minerales finas, se deposita constituyendo un cieno (vase, mud). Un cieno se distingue de un fango en la heterogeneidad de sus partículas, algunas de ellas más finas que las del propio fango, pero otras más groseras; y de un limo en que en éste el hierro se encuentra en estado de óxido mientras que en el cieno se encuentra en forma reducida al estado de sulfuro. La materia orgánica se halla en estado de oxidación más acusado en el limo.

Para que sea posible la formación de un depósito cenagoso, se requieren un conjunto de condiciones:

a) En primer lugar es necesario un abundante suministro de materia orgánica, ya que la proporción de ésta que se transforma en sedimento, es muy pequeña (4).

b) Las condiciones del medio que va desde el lugar de origen al de sedimentación, han de ser tales, que la materia orgánica pueda conservarse.

c) Además, para que el depósito pueda quedar fijo y haya verdadera sedimentación, es necesario el estancamiento o por lo menos un suave deslizamiento de las aguas en estas zonas de equilibrio.

d) Al mismo tiempo que la materia orgánica es necesario que se

deposite una materia mineral de grano fino que forme una sola fase con la materia orgánica, por lo menos desde el punto de vista macroscópico. Esta materia mineral preserva a la materia orgánica de la oxidación y contribuye a su transformación en materia orgánica resistente o humus marino, consolidándose el depósito en cieno. El "algón" o puré de algas de Bourcart, es el venero de materia orgánica que formará el cieno.

La materia mineral es algo distinto. Se han forjado diversas teorías para explicar la formación de un cieno. Hay quien los confunde con las arcillas; sin embargo, otros autores han encontrado en los cienos, en vez de silicato aluminico, granos de cuarzo, feldespato, micas diversas, minerales pesados, óxidos de hierro, etc. Se ha pensado que las partículas finas del cieno han sido producidas por la desintegración mecánica de guijarros y arenas de los minerales de la cuenca. Sin embargo, más bien parece que su verdadero origen se encuentra en la alteración y descomposición química de las rocas graníticas y las arenas procedentes de éstas.

Las teorías físico-químicas de coagulación de la solución coloidal, que constituye la materia orgánica en suspensión en los ríos, por la acción de los electrolitos del agua del mar, estuvo también en boga. Esta teoría no explicaría el análogo fenómeno de sedimentación del humus en estanques de agua dulce, donde no existen electrolitos. Además, si esto fuese absolutamente cierto, coincidiría la zona de sedimentación con el límite de la marea de salinidad. Parece ser, sin embargo, que aquélla coincide más bien con el límite de la onda mecánica de marea.

Bourcart y Boeuf estudiaron el fenómeno de la formación del cieno "in situ". Observaron que éste se transporta en forma de copos o espuma, cuya densidad es análoga a la del agua del mar; por eso puede permanecer mucho tiempo entre dos aguas, hasta que se pone en contacto con un objeto mojado, que puede ser cieno previamente depositado, o bien algas, mejillones, etc., a los que se fija por su enorme adherencia, quedando fuertemente retenidos.

Un cieno tiene una apariencia heterogénea, aunque a primera vista su apariencia pudiera parecer continua. Su observación microscópica permite distinguir tres clases de elementos distintos en todos y cada uno de los copos que lo constituyen.

Una red de contorno exagonal, constituida por partículas negras de una a dos micras de diámetro a las que debe el fango su color negro. Está guarnecida en sus nodos por granos de naturaleza diversa, según la constitución geológica de la cuenca, desde la calcita

a la glauconita, pasando por el cuarzo, feldespato, etc., y adherido a este conjunto o retenido en sus mallas, existen siempre partículas orgánicas, como caparazones quitinosos de crustáceos, granos de polen, esporas, etc., y también restos inorgánicos animales como conchas de moluscos jóvenes y esqueletos de foraminíferos.

La heterogeneidad de el cieno se estudia cuantitativamente mediante el análisis mecánico o granulométrico del mismo por los procedimientos de tamizado, elución y sedimentación, ilustrándose los resultados mediante las curvas correspondiente (5, 6, 7).

Métodos de Estudio de la Cantidad de humus en un Sedimento:

La determinación absoluta de la cantidad de humus de un cieno, cieno arenoso o arena fangosa, no ha sido ideado todavía, porque el humus no está constituido de una especie química única, ni siquiera de unas pocas. Más arriba hemos visto la complejidad de éstos. De los tres grupos de sustancias que constituyen el humus marino como principales componentes: a) ligninas y sus derivados; b) proteínas, y c) hidratos de carbono, principalmente polisacáridos y poliurónidos, muy poca o ninguna investigación se ha hecho para estudiar particularmente la constitución química de cada una de las especies que componen estos grupos. El N. se admite que está en forma protéica y sería interesante conocer la fórmula química y origen de cada una de las especies de este complejo protéico; lo mismo sería deseable para las diversas ligninas y carbohidratos.

La determinación del C. es, con mucho, la manera más correcta para calcular el contenido en materia orgánica de un sedimento. Existe, sin embargo, el problema del factor. Fundado en la determinación del contenido en C. de cada una de las fracciones de la porción de humus extraída por el álcali en el análisis del mismo verificado por Waksman, correspondería, según sus cálculos, para dicho factor el valor de 1,887, que representa un contenido de 53 por 100 de C. en la materia orgánica; este factor sería correcto si la materia orgánica extraída por el álcali tuviera la misma composición que la fracción insoluble. Este no es precisamente el caso como el mismo Waksman observa, al considerar que la relación C/N es mucho mayor en la fracción insoluble. Este factor para el mismo autor sería pequeño en el caso de los sedimentos oceánicos y demasiado elevado para los depósitos geológicos. Lo primero es explicable porque los depósitos oceánicos de origen exclusivamente planctónico, son relativamente más ricos en N. y, por lo tanto, más pobres en C., debido a la ausencia

de ligninas, muy ricas en este último elemento, de origen terrestre, a diferencia de los cienos neríticos. Lo segundo se explica por el empobrecimiento en N. con el tiempo, y enriquecimiento concomitante en C. Trask (4) utiliza el coeficiente de transformación de 1,8 teniendo en cuenta que su correspondencia en % de C. en el humus es de 56, valor intermedio entre los que suele oscilar aquél en éstos.

Considerando que en buena parte los cienos del fondo de la ría tienen un origen terrígeno y, por lo tanto, son ricos en ligninas de elevado contenido en C., hemos considerado que el factor de Trask puede ser adecuado para nuestro caso.

Métodos propuestos:

Muy pocos de los trabajos publicados para el estudio del contenido orgánico de sedimentos utiliza la determinación por combustión de la materia orgánica y absorción del CO₂ producido. La mayoría de ellos utiliza la pérdida por calcinación; determinación de N., que es más rápido y menos engorroso; el método de oxidación simplificado; la determinación del contenido en fosfatos; textura; volatilidad y otros...

Pérdida por Calcinación:

El método considera como materia orgánica la pérdida por ignición con ciertas correcciones. Con la materia orgánica se volatiliza el agua y pierden CO₂ los carbonatos. Esto hay que tenerlo en cuenta. En realidad las arcillas experimentan más pérdida de agua química que las arenas y los fangos. Por otra parte el CO₂ puede expulsarse totalmente cuando es bajo el porcentaje de carbonato, si es elevado una buena parte queda sin descomponer. Este método sólo puede dar buenos resultados para un tipo de sedimentos conocido, para el cual se han establecido previamente fórmulas empíricas, donde la materia orgánica se calcula de la pérdida por ignición y el porcentaje de carbonato cálcico. Las fórmulas varían con el aumento de este porcentaje y por encima de cierto límite son inaplicables.

Volatilidad:

La cantidad de sustancias producidas en la destilación seca de un sedimento, depende de la cantidad de materia orgánica, pero no todas las materias orgánicas presentan la misma volatilidad y, por lo tanto,

la medida de ésta será sólo una medida grosera o aproximada de aquélla ya que la volatilidad depende también de la constitución particular de un humus determinado. Es interesante la relación carbono orgánico-volatilidad, cuanto menor sea ésta mayor será la volatilidad y su conocimiento nos puede conducir a dilucidar la naturaleza de dicha materia orgánica, de la misma manera que nos conducía al mismo fin la relación carbono orgánico-poder reductor.

Textura:

Tiene un cierto valor para zonas determinadas de sedimentación.

El tamaño de las partículas de un sedimento está relacionado con la cantidad de materia orgánica; cuanto más próximas sean las velocidades de sedimentación de las partículas minerales y las de la materia orgánica, mayor será la riqueza en ésta del sedimento originado. Así, los sedimentos más finos, son los más ricos. Para la región de Channel Islands (California), un barro (menor de 5 micras) contiene doble cantidad de un fango (5-50 micras) y cuatro veces más que las arenas finas (50-250 micras).

Si un determinado tipo de sedimento se muestra similar a sí mismo a través de una zona determinada de sedimentación, podremos coleccionar el contenido en humus de su textura. Esto no se puede generalizar a otros parajes de sedimentación en zonas distintas del globo, ya que para sedimentos de análoga textura se presentan valores muy distintos en el contenido en humus.

Por eso la determinación granulométrica tiene sólo un valor limitado en la apreciación del contenido en humus.

El contenido en nitrógeno orgánico:

Así como la relación C./Humus es sencillamente constante para sedimentos del mismo origen, no ocurre lo mismo con la relación N./Humus. Aunque para un mismo tipo de sedimento su valor se mantiene dentro de estrechos límites, varía grandemente para dos sedimentos separados por pocas millas de distancia y para sedimentos de la misma localidad situados a distintas profundidades, y aún, como tendremos ocasión de ver, para sedimentos muy próximos dentro de la ría de Vigo. Teniendo en cuenta que la relación C/N. es igual a diez, como término medio según la mayoría de los autores, habría que multiplicar por 18 el N. obtenido para pasar a "humus", lo que corresponde a un 5 por 100 de N. aproximadamente. Este coe-

ficiente está fundado en el valor normal antes citado de la relación C/N. y en el factor 1,8 para el paso de C. orgánico a "humus marino", del cual hemos hablado más arriba, y que corresponde a un contenido de un 56 por 100 de C. Pero este valor de diez es sólo un valor medio.

Si consideramos los valores extremos de Waksman 8,1 y 14,9 para la relación C/N, la cantidad de este último oscilaría entre 6,91 y 3,7' por 100; los factores de transformación serían 14,4 y 26,9 respectivamente para pasar de N. a materia orgánica.

Hay autores que dan valores todavía más extremos para la relación C/N, entre 12, 32 y 2515 para un cieno de estuario (5) y aun dentro de los amplísimos límites de 4,9 y 32 (8). Esto revela que mientras el carbono permanece constante en el humus, no así el nitrógeno que fluctúa dentro de un amplio margen. Por estas razones la determinación del contenido de nitrógeno de un sedimento no se puede utilizar con seguridad para la apreciación de la cantidad de materia orgánica del mismo. La relación C/N. es por otra parte ilustrativa en cuanto permite especular acerca del origen de un sedimento.

El método de oxidación simplificado:

Es un método rápido, aunque aproximado, para la determinación de la materia orgánica, tiene un fundamento análogo al utilizado en la determinación de la materia orgánica en el agua del mar, aunque el oxidante es distinto. Allí se emplea el permanganato en medio ácido o alcalino. Aquí se emplea el ácido crómico 4N. El número de centímetros cúbicos gastados en la oxidación de la materia orgánica contenida en 100 grs. de sedimento nos da directamente el porcentaje de ésta si se trata de un sedimento fósil, para los sedimentos recientes, la cantidad de muestra ha de elevarse a 110 grs., o aun a 120, según Waksman (4).

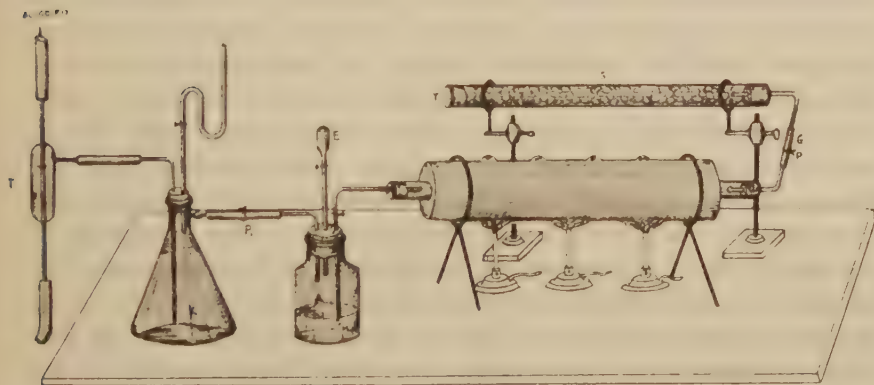
La técnica consiste en la ebullición del sedimento con un exceso de solución de ácido crómico durante un tiempo definido y corto y titulación por retorno con sulfato ferroso amónico.

Este método no es absoluto como fácilmente puede comprenderse. En realidad es una medida del poder reductor que adolece de los mismos defectos que los del método del permanganato para aguas; otros errores se deben a la presencia de materia mineral reductora. La cantidad de ácido crómico consumida depende, para la misma cantidad de materia orgánica, del estado de reducción de ésta, acusando

cantidades iguales de materia orgánica, valores distintos del poder reductor y también valores iguales de éste, corresponden a cantidades distintas de materia orgánica. La presencia de materias inorgánicas del tipo de la pirita, pueden dar lugar a números anormalmente altos.

Método adoptado:

Ante la imposibilidad de disponer de un método absoluto para la determinación del "humus marino", hemos elegido la determinación del C. y transformación subsiguiente en materia orgánica, como el procedimiento que ofrece más garantías para el conocimiento del contenido en humus de las muestras analizadas.



Aparato empleado y técnica seguida:

La técnica seguida para las determinaciones, está fundada en la oxidación al rojo incipiente, para evitar la posible descomposición de los carbonatos que originaría números anormalmente altos, de las muestras colocadas en una navetilla de porcelana, en el interior de un tubo de combustión de cuarzo. Este tubo está incluido en un horno de chapa de hierro forrado de amianto. En la chapa se abrieron diversas ventanas a distancias regulares, dejando descubierto el asbesto, aplicando en estos lugares desnudos de hierro el fuego de cuatro mecheros.

El tubo de combustión está conectado por un extremo con un tubo de cal sodada para retener el CO_2 , y por el otro con un frasco de absorción, que enlaza con la trompa, y está destinado a contener di-

solución de hidróxido bórico aproximadamente O,IN., de título exactamente conocido.

Se opera en el vacío y éste se consigue de manera idéntica a como hemos consignado en nuestro trabajo anteriormente citado (9).

El tubo de combustión se carga con dos espirales de alambre de cobre recubierto con tela nueva de cobre, para retener los posibles óxidos de nitrógeno que hayan podido formarse en la combustión de la materia orgánica, así como el posible cloro y óxidos de azufre. Se ha procurado que las espirales ajusten bien al tubo, para evitar que la carga se caiga cuando se inclina éste. A continuación de las espirales de cobre se introduce cromato de plomo granulado, que ha sido calcinado al rojo, para oxidar la posible materia orgánica que pudiera contener. Inmediatamente después viene una nueva espiral de cobre, y a continuación una gruesa capa de óxido cúprico que ha sido calcinada al rojo por un buen espacio de tiempo por análoga razón que en el caso del cromato. Después de la capa de óxido de cobre colocamos otras dos espirales de cobre que han sido calcinadas al rojo para que se recubran de una capa de óxido de espesor suficiente. La navecilla de porcelana viene seguidamente, y en ella se introduce el sedimento previamente pesado para el análisis, mezclándolo en la misma navecilla con óxido cúprico suficiente, recubriendo la mezcla con más óxido cúprico, para que se realice totalmente o casi totalmente, si ello es posible, la oxidación en la misma navecilla. Los gases de la combustión antes de alcanzar el frasco de absorción, han de atravesar una capa de 10 cm. de longitud y 2,5 cm. de diámetro del cilindro de óxido cúprico granulado y otra capa del mismo espesor y diámetro de cromato de plomo.

De esta manera queda asegurada la completa oxidación del C. de las muestras analizadas. Por último detrás, de la navecilla colocamos una gruesa espiral de alambre de cobre que cierra el sistema de la carga.

Toma de la muestra y técnica operatoria:

Las muestras para el análisis, han sido tomadas por los mismos procedimientos utilizados por nosotros (9), y se conservaron para su secado en hojas de papel de filtro. Cuando las muestras estaban secas se pulverizaban en un mortero hasta polvo impalpable, para conseguir así concordancia en los análisis, que para cada muestra se realizaron por duplicado.

Procedemos a realizar una determinación, pesando una cantidad

de muestra que osciló alrededor de 0.1 gr., en la navecilla tarada para cada operación, ya que siempre quedan residuos en ella de óxido cúprico que no ha podido limpiarse completamente y que hacen variar su peso. Se carga el tubo con la navecilla y la sustancia mezclada con el óxido de cobre para la combustión. Se utiliza una aguja de acero para verificar la mezcla del sedimento con el oxidante, arrastrándola al mismo tiempo que se la hace girar en redondo por el borde de la navecilla, para desprender las posibles partículas adheridas a la misma.

Se introduce la navecilla en el tubo de cuarzo, se colocan a continuación las espirales de cobre, se ajusta el tapón correspondiente y se procede a cargar el frasco de absorción (A) con agua destilada, exenta de CO₂ por ebullición prolongada, y se ajustan todos los demás tapones. Se abre la trompa y el vacío se hace en el aparato. Se necesitan veinte minutos, con la llave abierta completamente, porque el volumen del aparato es relativamente grande. Cuando han transcurrido diez minutos sin paso de burbuja alguna a través del frasco de absorción (A), el manómetro señala un vacío de 10 mm. de Hg. Se quita entonces el tapón (T) del tubo de cal sodada y se afloja la pinza (P) del tubo de goma (G). El aire exterior, privado de CO₂ por su paso a través del granulado de cal sodada del tubo (S), arrastra las trazas de CO₂ del tubo de combustión (C) y demás partes del aparato hasta la trompa. Se vuelve a observar el cese del burbujeo como antes, y cuando esto ocurre se introduce en el embudo (E) una cantidad exactamente medida de una disolución aproximada de hidróxido bórico 0.1 N. de título recién comprobado, y se pasa al frasco de absorción lo más rápidamente posible, lavando el embudo a continuación cuatro veces con agua destilada exenta de CO₂. La adición de una gota de fenolftaleína nos indicará el momento en que todo el hidróxido bórico ha pasado al frasco de absorción. Esta fenolftaleína servirá como indicador en la titulación final. El tiempo invertido en la combustión suele ser aproximadamente de una hora, siendo función del contenido en C. de la muestra analizada. Se cierra la pinza (P), se encienden los mecheros con la entrada de aire cerrada y la llave de paso del gas a medio abrir, empezando por el más próximo al frasco de absorción, y terminando por el más cercano al tubo de cal sodada. Se abre poco o poco la entrada de gas en los mecheros, así como la entrada del aire, llegando gradualmente a ponerlos a toda presión.

Pronto empieza un desprendimiento de burbujas grandes de vapor de agua en el frasco de absorción (A), después disminuyen éstas

y pronto se observa un burbujeo intenso de CO₂ cuando la temperatura en el tubo de combustión es suficiente. Se mantiene así, al rojo incipiente, por espacio de una hora, excepto en la parte del tubo más cercana al frasco de absorción, donde están las espirales de cobre. Cuando en el frasco de absorción no pasan burbujas por espacio de diez minutos, agitamos perfectamente el frasco (A) para que queden absorbidas las últimas porciones posibles de CO₂ que puedan existir en él, por encima del nivel del líquido, y quitamos en tapón.

Una vez que se ha llegado a este punto, quitamos la pinza (P), haciendo pasar por el aparato una corriente de aire libre de CO₂, que arrastra al frasco de absorción el CO₂ de su interior, y correspondiente a una presión de 10 mm.

Cuando la presión atmosférica ha sido restablecida en el interior del aparato, se cierra la llave del grifo de la trompa hasta que la velocidad de salida del agua sea la menor posible, para evitar que pase ésta al kitasato (K). Se quita el tapón del frasco de absorción, se lavan todos los tubos con agua exenta de CO₂, y se procede a la valoración del exceso de hidróxido bórico que no reaccionó con el CO₂ absorbido.

Las determinaciones han sido realizadas por duplicado y hemos conseguido concordancia dentro de una diferencia de 0.1 por 100 como máximo, el mismo límite de error tolerado para el análisis de los carbonatos de su contenido en CO₂ (9).

La exactitud de los resultados es independiente del peso de muestra tomado para el análisis, como se comprueba con el examen del Cuadro número I.

CUADRO NUMERO I

ESTACION	PESO DE SEDIMENTO EN MILIGRAMOS DETERMINACIONES			CARBONO ORGANICO % DETERMINACIONES		
I	1.125	1.037	88	4,29	4,19	0,1
X	1.982	3.246	1.264	1,45	1,49	0,04
XIII	969	1.122	153	2,82	2,89	0,07
XV	1.019	1.415	396	3,83	3,85	0,02
XVI	1.146	1.072	74	4,52	4,47	0,05
XIX	1.598	1.146	452	1,18	1,15	0,03
XX	1.010	1.884	874	5,35	5,27	0,08
XXV	2.616	2.442	174	1,08	1,04	0,04

Hemos utilizado óxido cúprico de marca nacional, con buenos resultados, así como el de la marca inglesa BDH (British Drug Houses). El cromato de plomo usado fué de la casa Merck.

Las estaciones de donde se han tomado muestras de fondos coinciden en buena parte con las señaladas en este laboratorio para determinaciones hidrográficas. La mayoría de las mismas corresponden a la Ría de Vigo, pero también se han tomado algunas muestras en estaciones de las rías de Marín y Villagarcía.

Distribución geográfica de las estaciones:

Estación I.—En la línea Punta Sobreiro-Punta del Caballo. Enfilación E-W Isla Lobeira-Castillo de Rande. Profundidad 1,6 metros. Fango arenoso.

Estación II.—En la misma línea que la anterior. E-W. Punta San Adrián-Punta Chapelisa. Profundidad 1,1 metros. Arena fangosa.

Estación III.—En la misma línea que la anterior. E-W. Punta San Adrián-Castillo de Rande. Profundidad 0,9 metros. Fango arenoso.

Estación IV.—Punta del Puntal. Fango.

Estación V.—En la Boca del Canal del Río de Redondela. Arena fangosa. Profundidad 1 metro.

Estación VI.—En la línea del Canal del Río de Redondela-Punta Pereiro. E-W. Punta Regasenda-Castillo de Rande. Fango. Profundidad 4,5 metros.

Estación VII.—En la misma línea que la anterior. E. W. Castillo de Rande-Faro de la Guía. Profundidad 4 metros. Fango.

Estación VIII.—En la misma línea que la anterior. E-W. Punta San Adrián-Castillo de Rande. Profundidad 2,7 metros. Fango.

Estación IX.—En la misma línea que la anterior. Pegada a la Isla de Pedro Oliveira. Profundidad 2,5 metros. Fango.

Estación X.—Isla de Lobeira. Profundidad 5 metros. Restos de conchas.

Estación XI.—Entre Punta Aradouro y Punta Atravesada. Frente a la Calera. Fango. Profundidad 6 metros.

Estación XII.—Ensenada de Domayo. 50 metros al E. del Muelle. Cascajo.

Estación XIII.—Ensenada de Moaña. Media Playa. Profundidad 2,5 metros. Arena semigruesa. Banco de almejas.

Estación XIV.—En la línea oblicua hacia el Muelle y el interior de la Ría. Profundidad 5 metros. Fango arenoso.

Estación XV.—En la Ensenada del Con, siguiendo la misma línea. Profundidad 9 metros. Fango gris-negro, bastante homogéneo, algo arenoso.

Estación XVI.—Siguiendo la misma línea que la anterior. También en la Ensenada del Con. Profundidad 11 metros. Fango gris-negro.

Estación XVII.—En la línea Punta Regasenda-Punta San Adrián. E-W. Castillo de Rande-Punta La Guía. Fango arenoso. Profundidad 11 metros.

Estación XVIII.—Frente a la Ensenada situada a la derecha de Canteras Uriarte, entre Chapelisa y Rande, a 40 metros de la costa. Profundidad 11 metros. Fango.

Estación XIX.—Entre Punta Chapelisa y Muelle Secadero de Copiba. Arena tomada del borde del mar en la marea baja.

Estación XX.—Frente a la Base Naval de Ríos. Profundidad 14 metros. Fango.

RIA DE MARIN

Estación XXI.—En la convergencia de las líneas Luz Norte Río Lárez con Punta Arcabarca, y Muelle de Combarro con Muelle Lonja de Estribela. Fango.

Estación XXII.—Este. Isla de Tambo. Profundidad 4 metros. Arena fangosa.

RIA DE VILLAGARCIA

Estación XXIII.—Villanueva de Arosa. Fango arenoso.

Estación XXIV.—Frente a Villanueva de Arosa. Fango arenoso.

Estación XXV.—S. O. del Islote de la Barxa. Arena.

Distribución del C. Orgánico en la Ría de Vigo:

El contenido en C. orgánico en la Ría de Vigo es muy variable, desde 0,72 por 100 de C., correspondiente a 1,4 por 100 de materia orgánica, hasta 6,99 por 100 de C. equivalente a 12,58 por 100 de materia orgánica, se presenta toda una gama de valores intermedios.

Los valores más altos corresponden a la Ensenada de San Simón, en la línea Punta Pereiro-Canal del Río de Redondela. Esta zona, de cienos negros, de fuerte olor a SH_2 es una zona abiótica. A pesar de la proximidad de los bancos de moluscos, no se da el caso de que proliferen aquí; tampoco existe vida vegetal, ni zosteras, ni alga ninguna; estos sedimentos lisos y adherentes no son propios para la vida. A lo sumo, durante los grandes temporales, pueden irrumpir aquí restos de conchas de almejas y aun animales vivos, pero acaban por desaparecer por la inadecuación para la vida. Es curioso que exista una con-

tigüidad tan manifiesta entre zonas tan productivas como la de la línea siguiente Punta Sobreiro-Punta del Caballo y esta otra completamente azoica.

Un caso ilustrativo es el de la Ensenada del Con. En fondos de 2,5 metros, la cantidad de materia orgánica es baja, 1,4 por 100; la arena semiguiesa del fondo es propicia a la proliferación de un banco de almejas; a medida que la profundidad aumenta, crece también el contenido en humus, y cuando el cieno se hace dominante, sólo se ven algunos restos de conchas y después el cieno homogéneo exclusivamente, sin restos macroscópicos.

Puede decirse que en toda la Ría existe un cordón costero y bien ventilado (12), donde la materia orgánica es eliminada del medio, merced al movimiento de las aguas producido por el oleaje y la marea. A la profundidad de 11 metros se inicia la zona de cieno puro y quizás antes en algunos parajes. En la Ensenada de San Simón los cienos predominan a escasa profundidad y ocupan toda la anchura de la Ría. Cerca del borde, en Punta del Puntal, el contenido es considerable, 9,63 por 100. En la otra orilla, existen zonas a orillamar, muy cenagosas y casi azoicas, si se exceptúan los ejemplares de *Scrobicularia* que allí pueden encontrarse, formas éstas muy resistentes a los medios cenagosos; esto ocurre en las proximidades de los ríos Porcos y Mayor.

Podríamos decir que la Ría es una inmensa ciénaga de progreso lento. Si en algunos lugares se han encontrado recientemente espesores de casi veinte metros, como en Puente Sampayo, y en otros, como en la Ensenada E. de Rande, que permiten la ocultación total de galeones hundidos, no hay razón para que no sigan aumentando de grosor, puesto que el aporte de materia orgánica es superior a la destrucción de ésta, ya que de otro modo no hubiera podido depositarse, y resultaría extraño que se hubiese llegado al equilibrio precisamente en estos momentos. Si las condiciones geológicas, meteorológicas e hidrográficas continúan como hasta ahora, es probable que en un tiempo relativamente cercano quedase el fondo de la Ría por encima del nivel del mar.

En favor de esta hipótesis aboga no solamente el aporte de materia orgánica de los múltiples orígenes estudiados más arriba, sino también la materia mineral de origen terrígeno que aportan los ríos y arroyos de la cuenca y el lento movimiento epirogénico en que se encuentra incluido el fondo de la Ría como partícipe del ascenso general del

bloque granítico gallego (10) y (12). Si observamos el mapa de distribución de moluscos de la Ría de Vigo de Navaz (11), y comparamos la situación de los bancos de las distintas especies de aquéllos, vemos que, en la actualidad, se ha experimentado una gran variación, pues muchas de las zonas antes consideradas como muy productivas están hoy agotadas. Es muy probable que, además de la explotación exhaustiva, jueguen en ello un papel importante otros factores. Es casi seguro que la modificación del medio en un sentido determinado haya contribuido a la desaparición de una especie determinada donde antes las condiciones eran muy propicias y hoy no, para su desarrollo.

En cambio, puede ser que las condiciones actuales sean adecuadas para otra especie que ha venido a sustituir a la desaparecida ocupando su campo. Esto pudiera ser atribuido también a una mayor resistencia a las condiciones desfavorables que han surgido con la evolución del medio. Así vemos la almeja reproducirse en grandes cantidades donde antes había solamente ostra. La elevación del fondo pudiera ser una explicación por el hecho de que la escasa profundidad del agua sea desfavorable para la especie desaparecida, o porque también debido a la menor masa de agua que ello lleva aparejado, la concentración de materia orgánica sea proporcionalmente mayor, con fatales resultados para la ostra.

El hecho de que la extracción de la almeja, cuando se levanta la veda, agite la arena fangosa en toda el área de los bancos, en parajes contiguos a los ocupados por la ostra, también puede contribuir a modificar desfavorablemente las condiciones ambientales. La recogida de algas al E. de la Isla de San Simón, que los pescadores realizan con permiso de las autoridades de Marina es una medida de defensa instintiva contra los perniciosos efectos que su putrefacción produce, aumentando el contenido de humus del fondo.

En las zonas de marisqueo intenso, como señala acertadamente Navaz, el contenido en humus no progresa en el transcurso de los años. No es de extrañar que esto ocurra, pues mientras dura la temporada de extracción, ni una sola pulgada del fondo queda libre del rastrillo de los mariscadores. Esto remueve completamente el lecho de la Ría en estas zonas, aireando la materia orgánica al ponerla en contacto con el agua. Esta materia orgánica se mantiene en suspensión por tiempo suficiente para su mineralización, al mismo tiempo que el SH_2 que pasa del cieno removido al agua se oxida automáticamente a azufre.

Sin embargo, en las zonas de cieno puro, a diferencia de las zonas

fértiles de arenafangosa, donde no se agita el fondo, es muy probable que el espesor de aquél aumente invadiendo incluso zonas vecinas antes arenosas.

Los aportes orgánicos de los ríos Oitabén y Redondela contribuyen muy especialmente también, sobre todo durante las fuertes crecidas del invierno, a este colmteo progresivo del límite superior de la Ría, la cual queda en seco en buena parte en los momentos actuales durante la baja marea, señalándonos el camino inexorable que habrán de seguir progresivamente otras zonas más internas.

A continuación, en el Cuadro número II, consignamos los valores de C. orgánico por 100 y su equivalente en materia orgánica para las estaciones estudiadas.

CUADRO NUMERO II

ESTACION	Profundidad	CARBONO ORGANICO % DETERMINACIONES				N. %	Proteínas %	C./N.	Humus %
		1.º	2.º	Diferencia.	Media				
I	1,6	4,29	4,19	0,1	4,24	—	—	—	7,63
II	1,1	1,97	2,02	0,05	1,99	—	—	—	3,58
III	0,9	3,06	2,98	0,08	3,02	—	—	—	9,50
IV	1,0	5,34	5,23	0,11	5,28	—	—	—	0,50
V	1,0	1,05	0,96	0,09	1,00	—	—	—	1,80
VI	4,5	6,96	7,02	0,06	6,99	—	—	—	12,58
VII	4,0	6,75	6,82	0,07	6,78	—	—	—	12,20
VIII	2,7	5,86	5,96	0,10	5,91	—	—	—	10,64
IX	2,5	5,38	5,32	0,06	5,30	—	—	—	9,63
X	5,0	1,45	1,49	0,04	1,47	0,146	0,91	10,06	2,64
XI	6,0	4,15	4,66	0,51	4,40	0,520	3,25	8,62	7,92
XII	7,5	1,90	2,04	0,14	1,97	0,150	0,94	13,13	3,55
XIII	2,5	0,70	0,73	0,03	0,72	0,069	4,43	10,45	1,29
XIV	5,0	2,82	2,89	0,07	2,85	0,239	1,20	11,90	5,31
XV	0,9	3,83	3,85	0,02	3,84	0,427	2,67	8,99	6,88
XVI	11,0	4,52	4,47	0,05	4,49	0,447	2,69	10,04	8,08
XVII	11,0	3,37	3,38	0,01	3,37	0,340	2,12	10,50	6,08
XVIII	11,0	3,55	3,57	0,02	3,56	—	—	—	6,41
XIX	0,0	1,18	1,15	0,03	1,16	—	—	—	2,09
XX	14,0	3,89	3,87	0,02	3,88	0,345	2,15	11,2	6,98
XXI		5,18	5,12	0,06	5,15	—	—	—	9,27
XXII	4,0	2,62	2,66	0,04	2,64	—	—	—	4,75
XXIII		3,85	3,88	0,03	3,87	—	—	—	6,96
XXIV		3,70	3,80	0,10	3,75	—	—	—	6,75
XXV		1,08	1,04	0,04	1,06	0,106	0,66	10,0	1,91

El nitrógeno en las muestras analizadas:

Hemos utilizado el método de Kjeldahl con selenio como catalizador. El proceso de ataque va muy bien y el método es relativamente rápido y seguro. Sólo hemos realizado la determinación por duplicado para la primera muestra analizada en la Ensenada de Moaña-Estación 13 obteniendo valores que difieren entre sí en 0,0178 por 100, que juzgamos suficientemente buena. Los valores correspondientes de N. para las estaciones en estudio se consignan también en el Cuadro II, así como también su equivalente en proteínas.

La relación carbono/nitrógeno:

Es de importancia esta relación porque permite arrojar luz sobre la composición del humus, y por lo tanto sobre su origen. Esta relación oscila, según Trask, entre los valores de 8 y 12, con una media de 10, más arriba hemos indicado valores extremos de otros autores. Nuestro valor medio corresponde a 10,49.

La relación C/N varía con la profundidad de la muestra. Un sedimento antiguo—profundo—es relativamente más rico en C., porque el N. ha sido eliminado en parte en los lentos procesos de envejecimiento. Así, Waksman, estipula el valor 8,7 para la capa 0-30 cm., correspondiente a la estación 1.329 del Golfo de Maine, mientras este valor aumenta hasta 11 para la capa 60-90 cm. de la misma estación (1). En la estación 1.332 oscilan estos valores entre 13,47 y 14,9 para fondos de 0,25 y 50-75 cm., respectivamente.

Siempre existe una pérdida de N. en el paso de la materia orgánica del estado plantónico al de humus; de este modo, la relación C/N. se ve incrementada, como más tarde veremos. Si por otra parte esta materia orgánica debe su formación a un origen mixto terrígeno planctónico o terrígeno-bentónico-planctónico, como en nuestro caso, las cosas se complican en el sentido del incremento relativo en C., y por lo tanto de la relación C/N.

En el Cuadro I consignamos los valores para las estaciones indicadas de la relación C/N. en diez casos distintos; en ninguno de ellos se desvía aquélla de los valores normales correspondientes a otras zonas oceánicas. La media de todas ellas no sobrepasa apenas el valor medio normal de que más arriba hemos hablado.

La relación C/N. en el Planctón:

Se ha recogido planctón por arrastre de la red desde la convergencia de las normales al pabellón de deportes del Club Náutico y esquina del Muelle de Transatlánticos, hasta la Estación II, en el mes de junio. Estaba constituido este planctón por una mezcla de fitoplanctón y zooplancton, con predominio de este último, de la siguiente forma: zooplancton: copépodos 40 por 100, cladóceros 50 por 100, velígeros y conchas pequeñas 4 por 100 y tintínidos (Dadayela). Fitoplancton: Diatomeas: Rhizosolenia Stolteforthi, Thalassiosira sp., Eucampia Zoodiacus; Peridíneas: Peridinium sp., Ceratium Fusus, Ceratium furca.

La muestra recogida fué lavada al chorro de la fuente y después secada en la estufa a la temperatura de 80°, y después analizada por los mismos procedimientos empleados en el análisis del contenido en humus del sedimento.

Se halló para dos determinaciones de C. orgánico los valores de 41,27 y 41,33 por 100, con una media de 41,30 por 100. Determinado su contenido en N. por el método de Kjeldahl, obtuvimos el valor único de 0,8218 por 100, lo que nos da para la relación C/N. el valor de 5,04.

Relación C/N en el Benthos:

Asimismo fué analizada de su contenido en C. una muestra de zosteras y clorofíceas, recogida en la superficie de la Ría en junio.

La muestra fué secada al aire y analizada sin lavar. La cantidad de N. fué de 3,64 por 100 y la de C. de 35,27 por 100. Resultando para la relación C/N el valor de 9,68.

Esta muestra no se puede considerar representativa del Benthos, porque las proporciones relativas de zosteras y clorifíceas de la muestra analizada fueron tomadas al azar. Por otra parte, se ven flotando en estos parajes enormes cantidades de algas pardas de especies distintas; las proporciones de éstas y otras algas que concurren en la formación del humus, es difícil de precisar.

Estas muestras que han sido secadas sin lavar, además de las cenizas de las algas llevarán las sales de impregnación procedentes del agua del mar.

El C. y N. orgánico en el material de origen terrígeno:

A pesar de la importancia que tiene este material en la formación del humus, no hemos procedido a verificar el análisis de su contenido en C. y N., por la dificultad de una toma de muestras representativa. Los fragmentos vegetales en buen estado de conservación, como ramas, hojas de árboles, etc., no pueden considerarse aportes exclusivos. Más importante aun es la materia orgánica pseudodisuelta que en suspensión coloidal es aportada continuamente por los ríos. Tanto la una como la otra, varían cada día, y aún suponiendo que pudieran ser vencidas las dificultades para su análisis, este sólo representará el valor en un momento dado, y sería un problema de difícil solución el tratar de generalizar a un año entero con estos datos solamente.

B I B L I O G R A F I A

- 1.—WAKSMAN, Selman Abraham: "On the distribution of organic matter in the sea bottom and the chemical nature and origin of marine humus". *Soil Sci.* Vol. 36, núm. 2, august, 1933.
- 2.—CHAUCHARD, PAUL. "Los factores de variación del poder reductor del agua del mar". *Anales de L'Institut Oceanographique*. Tomo XV, Fasc. III, 1935.
- 3.—COPENHAGEN, W. J. "The periodic mortality of fish in the Walwis Region". Departament of Commerce and Industries. Division of Fisheries. Investigational Report, núm. 14.
- 4.—TRASK, PARKER D. "Organic content of recent marine sediments. p. 428-435 in Trask (ed.), *Recent marine sediments*, 1939.
- 5.—GRIPENBERG, STINA. "A Study of the sediments of the North Baltic and adjoining seas". *Fenia* 60, núm. 3, 231 p., Helsingfors, 1934.
- 6.—BOUCART, J. et FRANCIS BOEUF, C. "La Vase". *Actualités Scientifiques et Industrielles* 927. París, 1942.
- 7.—STETSON, HENRY C. 1938. "The sediments of the continental shelf off the eastern coast of the United States. *Papers in Physical Oceanografía and Meteorol.*, vol. 4, núm. 4, 48 p., 1938.
- 8.—WISEMANN, JOHN, D. H., and H. BENNETT. 1940. "The distribution of organic carbon and nitrogen in sediments from the Arabian sea. John Murray Exped. 1933-34, *Sci. Results*. V. 3, pág. 193-221, 1940. John Murray Expedition 1933-34, *Sci. Results*, vol. 3, pág. 193-221. 1940.
- 9.—FERNÁNDEZ DEL RIEGO, ANTONIO. "Determinación del Carbónico de los fondos de la Ría de Vigo. Cálculo del carbonato disuelto y consecuencias geobiológicas." *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*, núm. 44, 1951.
- 10.—CARLE, WALTER. "Die Westgalicischen Meeresbuchten. "Natur und Volk. Frankfurt am Main, Februar, 1947.
- 11.—NAVAZ, JOSÉ MARÍA. "Estudio de los Yacimientos de Moluscos Comestibles de la Ría de Vigo". *Instituto Español de Oceanografía. Trabajos*, núm. 16.
- 12.—FERNÁNDEZ DEL RIEGO, ANTONIO. "Las condiciones de estancamiento en la Ría de Vigo". *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*.

ALGUNAS OBSERVACIONES ACERCA DE LA
DETERMINACION DEL CONTENIDO LIPIDICO EN HARINAS
DE PESCADO

ALGUNAS OBSERVACIONES ACERCA DE LA DETERMINACION DEL CONTENIDO LIPIDICO EN HARINAS DE PESCADO

por

DOMINICA MONTEQUI y M. D. GARCIA PINEDA

La determinación de grasa en harina de pescado se ha venido considerando como un problema muy sencillo: pesar cierta cantidad de muestra, extraer la grasa con cualquier disolvente en cualquier extractor, evaporar a sequedad este disolvente y pesar la grasa extraída. Hay, sin embargo, multitud de factores que complican la determinación. Todos los factores pueden clasificarse en uno de estos tres apartados: heterogeneidad del producto, dificultades para una extracción hasta agotamiento y dificultades para desecar hasta el final el producto extraído.

Los errores de que adolecen las determinaciones en que no se han tenido en cuenta estos factores no son, en modo alguno, despreciables: un error de un 1 por 100 sería tolerable en un procedimiento de tipo industrial, pero en las experiencias que se detallan en este trabajo se ha llegado hasta un 50 por 100 de diferencia en los resultados, y en la bibliografía se han encontrado datos que refieren un 90 por 100 de discordancia (Southern Fisherman, 1954, cuando cita, por ejemplo, una harina muy vieja de la que sólo se recuperó 1/10 del aceite que se encontró en el producto recién fabricado.)

Es evidente que la harina de pescado es un producto muy poco homogéneo. Esto hay que tenerlo en cuenta en la toma de la muestra, que nunca podrá ser muy pequeña, y será tanto mejor cuanto a más procedimientos de homogeneización se la someta: agitadores, trituradores, tamices, etc. Pero no es este asunto lo más complicado del problema, ya que la falta de homogeneidad se acusa en seguida por la falta de concordancia entre dos determinaciones paralelas, y mientras se consiga paralelismo puede darse por descontado que se ha logrado una homogeneización suficiente.

Las dificultades que surgen en la desecación final tampoco pueden tener mucha trascendencia si se dispone de medianas instalaciones de vacío y calefacción; tienen su importancia, porque el extracto lipídico suele englobar con tenacidad parte notable de los disolventes que, de no ser eliminados por completo, falsean los resultados en grado alarmante.

Pero el problema que más importa y que abarca otros muchos, es el de llegar a un agotamiento total en cualquier circunstancia.

PARTE EXPERIMENTAL

Con objeto de hacer una revisión de algunos métodos que se describen en la bibliografía se llevaron a cabo las siguientes experiencias:

Primera experiencia

Hace algún tiempo, a raíz de la publicación de un trabajo de Stansby (1951), realizamos muchos ensayos para comprobar las ventajas del método que describía.

Se empleó una harina de carne de delfín; se determinó el contenido graso extrayendo con éter etílico. Dos determinaciones paralelas con el extaror de Soxhlet dieron por resultado 6,47-6,41 por 100 y otra determinación duplicada en el extractor de Twisselbaum dió 6,44-6,49 por 100.

Entonces, se examinó la misma muestra por el procedimiento de Stansby (1951), que introduce dos modificaciones esenciales: la sustitución del éter etílico por la acetona en un primer ensayo, y por acetona con 1 por 100 de ácido crorhídico en el segundo. Con objeto de que llegue a la muestra de harina la acción hidrolítica del ácido, la coloca no en el cartucho de celulosa de la parte media del extractor, sino en el matríz con el disolvente y la somete a una ebullición a reflujo, tanto en el segundo ensayo como en el primero.

En el Cuadro 1 se resume la marcha de tres determinaciones paralelas, en las que se llega al resultado final de 11,93 por 100 de grasa encontrada en la muestra que sólo dió 6.45 por 100 cuando se extrajo con éter anhidro.

CUADRO 1.—*Determinación de grasa en harina de carne de delfín, empleando acetona como disolvente y según el método de Stansby (1951).*

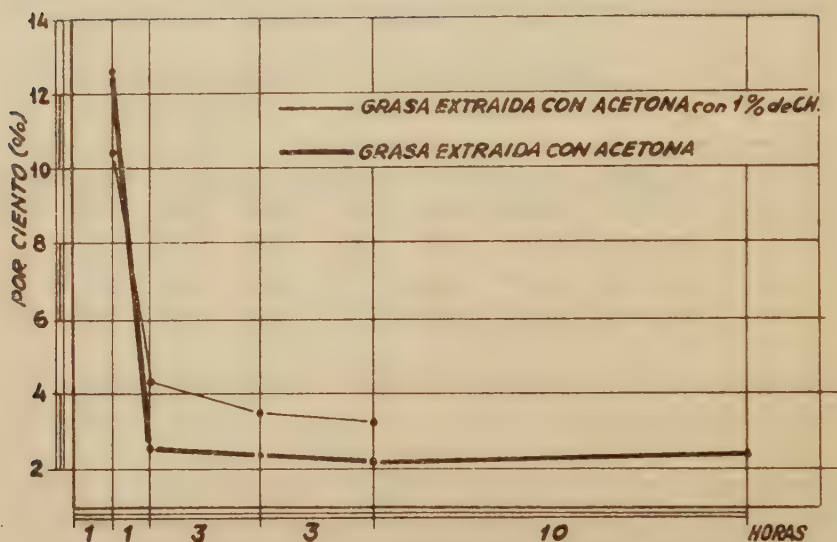
Extracciones	Horas	EXTRACTO BRUTO				EXTRACTO PURIFICADO			
		DETERMINACIONES			Media	DETERMINACIONES			Media
		o/o	o/o	o/o		o/o	o/o	o/o	
1	1	12,53	12,43	11,74	12,23	11,11	10,61	9,70	10,47
2	1	0,72	0,63	0,84	0,73	0,56	0,42	0,72	0,56
3	3	0,75	0,56	0,57	0,62	0,58	0,23	0,43	0,41
4	3	0,19	0,20	0,82	0,40	0,06	0,10	0,25	0,14
5	10	0,57	0,77	0,68	0,67	0,31	0,46	0,28	0,35
Total	18	14,76	14,59	14,65	14,65	12,62	11,82	11,38	11,93

Un número semejante se obtuvo tratando la misma muestra por acetona con 1 por 100 de ácido clorhídico. En el Cuadro 2 aparecen los datos del extracto purificado, ya que los de extracto bruto eran tan irregulares como para no tenerlos en cuenta.

CUADRO 2.—*Determinación de grasa en la misma muestra empleando acetona con 1 por 100 de ácido clorhídico.*

Extracciones	Tiempo horas	DETERMINACIONES			Media
		o/o	o/o	o/o	
1	1	8,77	9,10	7,37	8,41
2	1	2,52	0,97	3,00	2,16
3	3	1,79	1,03	1,41	1,41
4	3	1,35	0,51	1,53	1,13
Total	8	14,43	11,61	13,31	13,11

Ha de tenerse en cuenta que antes de extraer la grasa se había desecado la harina en estufa a 118° C. para eliminar la humedad procedente de la muestra. La ebullición a reflujo de la acetona con la harina es muy irregular y tumultuosa. La filtración se hizo por dos filtros sin pliegues que se colocaron encontrados. Se evaporó el disolvente del filtrado y se desecó en estufa. Para purificar el extracto se trató con éter, se dejó un día y después se filtró, desecó y pesó.



En el Gráfico 1 se hace una comparación de las dos marchas del tratamiento acetónico.

Los resultados y la forma del gráfico parecen indicar que la hidrólisis clorhídica destruye primero parte de la grasa, por eso el extracto obtenido en una hora es más bajo; luego hidroliza, arrastra y disuelve otras sustancias de distinta naturaleza, lo que también disminuye la exactitud de la determinación, a pesar de la purificación final; por eso son más altos los valores de las extracciones siguientes.

Segunda experiencia

En esta experiencia se realizaron tres ensayos, en los que se examinaron cuatro muestras de harina de pescado que tuvo la amabilidad de enviar don Agustín de la Fragua, asesor químico de Harina de Pescado Alfa, S. A.

Primer ensayo.—Se pesaron unos 4-5 grs. de la muestra, se desecaron en estufa a 125-130° C. y se tuvieron en el extractor Twisselbaum durante 6-8 horas, empleando éter etílico como disolvente. Los resultados—que son la media de dos determinaciones paralelas—están consignados en el Cuadro 3.

Cuadro 3.—Cuerpo muscular con una muestra en una zona de muestra de huesos de ganado.

Muestra	% de grasa
1 Muestra de carne de ternero. Aislada zona de 1955	7.76
2 Muestra de carne de ternero. Aislada zona de 1955	4.28
3 Muestra de carne de ternero. Puntos 28. Muestra de 1955	6.66
4 Muestra compuesta de carne "blanca". Puntos 28. Muestra de 1955	11.2

Legenda muestra.—Las muestras como en el presente caso que son muestras de carne aislada como resultado de la extracción en el Cuadro 4.

Cuadro 4.—Cuerpo muscular con muestra en las mismas muestras de huesos de ganado.

Muestra 1	3.45 % de grasa
" 2	4.30 " "
" 3	7.8 " "
" 4	22.75 " "

Primer ejemplo.—Para la muestra con dos de estas muestras también se muestra la cantidad de hueso empalmado total de 8.45 grs. y se secciona con cuidado en el mismo aparato para aislar la muestra en el mismo con el dispositivo de extracción para seguir el método mencionado por Vachon (1955), en lugar de aislar en el momento de seccionar en la parte media del hueso, secciona a la altura de los vasos. Después de 8.45 horas de extracción a presión se hizo y se aisló el pariente luego al desmenuzamiento del hueso y los líquidos de lavar en una muestra paralela donde se pasó la grasa aislada. En una de las muestras se obtuvo un resultado que coincide con el obtenido en el segundo ejemplo, pero el de la otra muestra era muy bajo.

En los Cuadros 3 y 4 se muestran los resultados de las determinaciones de hidrogeno y hidroxido de sodio, 1945 obtenidos en la grasa de las muestras 1-4 obtenidas en el primer y segundo ejemplos.

1. Esta muestra 4 es un individuo que representa un tipo de muestra diferente en el estado a los que se le muestra la grasa.

CUADRO 5.—*Determinación de nitrógeno en la grasa obtenida en los ensayos primero y segundo.*

MUESTRAS	N EN GRASA EXTRAIDA CON ETHER ETILICO	N EN GRASA EXTRAIDA CON ACETONA
1	0,18 %	0,70 %
2	0,39 %	0,69 %
3	0,67 %	1,28 %
4	0,90 %	1,14 %

CUADRO 6.—*Determinaciones de fósforo en la grasa obtenido en los ensayos primero y segundo.*

MUESTRAS	P EN GRASA EXTRAIDA CON ETHER ETILICO	P EN GRASA EXTRAIDA CON ACETONA
1	0,01 %	0,02 %
2	0,10 %	0,20 %
3	0,15 %	0,25 %
4	0,20 %	0,30 %

Tercera experiencia

Esta experiencia se realizó con las muestras 1 y 3, sometiéndolas al procedimiento de la A. O. A. C. (Association of Official Agricultural Chemist, 1950, Official Methods of Analysis). Para poder discutir los resultados, se detallan en los cuadros 7 y 8. Aparte de los detalles que en estos cuadros se indican y de los que da la referencia que se cita, hay que hacer constar que las muestras no se desecaron previamente, aunque los resultados se han referido a sustancia seca.

CUADRO 7.—*Determinación de grasa en la muestra 3 por el método de la A. O. A. C.*

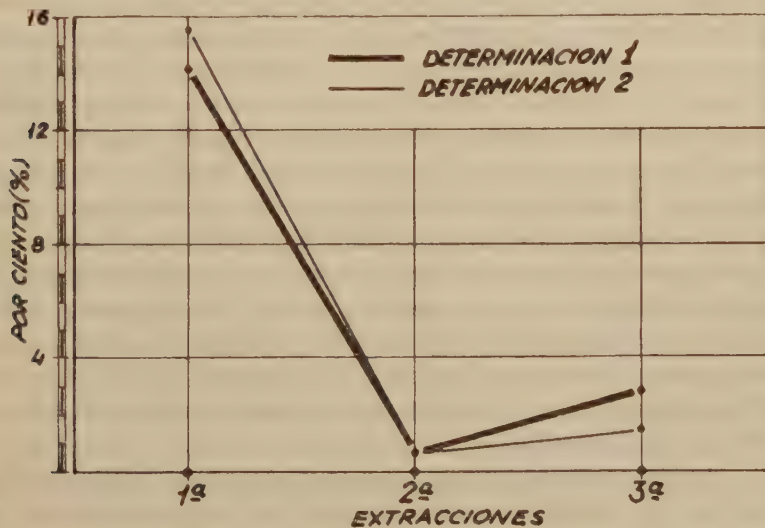
	DETERMINACION 1		DETERMINACION 2	
Grasa extraída en las primeras 8 horas ...	0,5725 grs.	14,02 %	0,5920 grs.	15,35 %
En las segundas 8 horas	0,0320 "	0,78 %	0,0240 "	0,62 %
Después de la diges- tión con CIH	0,1015 "	2,29 %	0,0545 "	1,41 %
Grasa total		17,29 %		17,38 %

CUADRO 8.—*Determinación de grasa en la muestra 1 por el método de la A. O. A. C.*

	DETERMINACION 1	DETERMINACION 2
Tanto por 100 de la grasa extraída antes de la digestión clorhídrica... ..	16,68	16,90
Tanto por 100 de la grasa extraída después de la digestión	1,22	1,13
Grasa total	17.90 %	18.03 %

DISCUSION

En las dos primeras experiencias, se ha seguido como norma de secar las muestras antes de tratarlas por los solventes y emplear en algunos casos disolventes anhidros. Se adoptó esta medida para evitar los inconvenientes que se presentan en la desecación del producto final, que Stansby (1951) trata de resolver por instalaciones y procedimientos complicados. Sólo en la última experiencia se suprimió este detalle, para seguir en todo lo posible el procedimiento de la



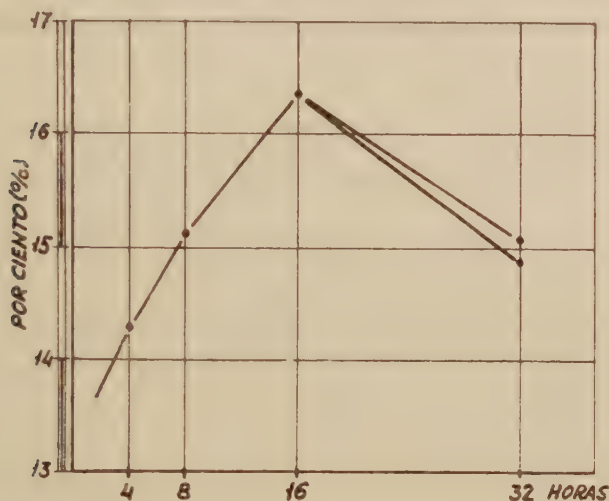
A. O. A. C., lo que luego ha de tenerse en cuenta cuando se pase a considerar los resultados obtenidos.

Si se hace una comparación entre los resultados de la segunda experiencia, parece resaltar la superioridad de la acetona como disolvente en comparación con el éter etílico. Interesa también considerar los resultados de los cuadros 5 y 6. Estos sugieren que, si la acetona da una proporción de extracto mayor que el éter, es porque disuelve productos de distinta naturaleza que el éter no arrastra. De no ser así, al analizar estos productos, el contenido en nitrógeno y en fósforo debía ser igual en todos ellos, y todos los análisis han dado un contenido más alto en los productos extraídos por la acetona.

Al seguir el procedimiento de la A. O. A. C., se obtuvo un número final mucho mayor que en los anteriores; pero para indagar la causa de esta subida es muy útil considerar los resultados parciales de cada una de las tres etapas. Téngase en cuenta las modificaciones que introduce este método sobre el que se sigue en el segundo ensayo de la segunda experiencia: 1.^a extracción más prolongada; 2.^a sobre una muestra no desecada, y 3.^a la hidrólisis clorhídrica. ¿Cuál de las tres es la que más ha influido en los resultados? El gráfico 2 muestra que no ha sido la 1.^a ni la 3.^a, al menos en el caso de estas harinas, ya que la cantidad extraída en la segunda y tercera operación es insignificante comparada con la que se extrajo en la primera, que no es otra cosa sino una determinación igual a la seguida en el segundo ensayo de la segunda experiencia y que, no obstante, ha dado un aumento de más de un 50 por 100 en el resultado, lo que se ha confirmado al repetir el ensayo con la muestra 3 (cuadro 8). Parece evidente que sea la desecación de la muestra lo que hace descender el resultado de la determinación; y si es esto, cabe discutir si es debido a que la acción del calor altera la solubilidad del producto, o si ésta permanece inalterable; pero la presencia del agua ejerce una acción hidrolítica que favorece a la completa extracción de las sustancias lipídicas, como sugiere Stansby (1955), en el nuevo método que propone. Animados a inclinarse a favor de la segunda razón, los resultados de la primera experiencia (harina de carne de delfín), en la que también aparece una diferencia del 50 por 100 en los resultados obtenidos de una misma muestra por dos procedimientos, y en ambos se operó con muestra desecada, no obstante la acetona que se empleó en la extracción por el procedimiento de Stansby no era anhidra.

Las acciones hidrolíticas son algo muy delicado y difícil de regular, a veces favorecen y también pueden ser perjudiciales. Un caso

notable cita el mismo Stansby (1951) y queda ilustrado en el gráfico 3. En la misma nota alude a la lentitud del proceso de extracción; dieciséis horas suelen ser insuficientes y hasta después de una prolongada acción de más de cien horas, todavía se van extrayendo lentamente cantidades apreciables de grasa; y luego da un cuadro de la



experiencia que se representa en el gráfico 3, en que, si bien la cantidad de grasa extraída va aumentando regularmente con el tiempo de extracción, esto tiene un límite que se acusa en el repetido descenso que se produce a las treinta y dos horas de extracción, debido —explica él— a una posible hidrólisis de la solución aceite-acetona, ocurrida por el prolongado calentamiento.

En América están trabajando con insistencia por dar una solución eficaz a este problema de la determinación de grasa en harinas de pescado. Lo más espinoso de la cuestión es el hecho del envejecimiento del producto que acusa una variación notable en los resultados obtenidos por los métodos en uso (Southern Fisherman, 1954). En España y toda Europa, el problema no es tan acuciante y hasta ahora se contentan las industrias con el procedimiento ordinario (extraer en Soxhlet con éter etílico), aunque no carece de interés el afinar y revisar métodos y resultados, como se desprende del Informe de las reuniones celebradas en Londres, en el mes de noviembre de 1955, por el Comité Internacional de Fabricantes de Harinas de Pescado.

Stansby (1955), cuando se refiere al envejecimiento de las harinas, sugiere que la grasa que existía libre en una harina recién fabricada, se liga con el tiempo y constituye un grupo molecular que resiste a la disolución; amplía esta suposición con el comentario de que tanto mayor es la proporción de grasa ligada por la acción del tiempo cuanto más insaturada sea esta grasa. Este hecho inclina a pensar, más bien, en un sencillo proceso de oxidación que altera la solubilidad del producto.

REFERENCIAS

- Allen, R. J. L., *Biochem. J.*, *34*, 858, 1940.
- Association of Official Agricultural Chemist "Official Methods of Analysis, 1950, pár. 22-28.
- Southeren Fisherman, *14*, 135, 1954. (Extrac. Pesca Mundial, F. A. O., *6*, *2*, 1955.)
- Stansby, M. E., *J. Assoc. Off. Agri. Chem.*, *34*, 549, 1951.
- Stansby, M. E. y Clegg, Wm., *Comm. Fish. Review*, *17*, n. 5, p. 17, 1955.

ADVERTENCIAS A NUESTROS COLABORADORES

Los originales que se entreguen para su publicación en este Boletín, deberán prepararse con arreglo a las siguientes normas:

1.^a Deberán escribirse a máquina, a doble espacio y por una sola cara del papel.

^a El título expresará de un modo conciso el contenido del mismo.

3.^a Las referencias bibliográficas se harán por llamada al pie de página, indicándose: nombre del autor (en iniciales) y apellidos (en versalitas); denominación de la revista o libro (en cursiva y en forma abreviada); indicación de la serie (entre paréntesis); si se trata de libros, se añadirán editorial, población y año.

4.^a Estos antecedentes bibliográficos se reducirán estrictamente a los que tengan relación inmediata con el trabajo.

5.^a Cuando se haga referencia a algún método general ya establecido por otros autores, se omitirá la descripción de dicho método, citando tan sólo el trabajo original en que figure.

6.^a Los gráficos y esquemas se limitarán en lo posible y deberán dibujarse sobre papel vegetal, con tinta china, teniendo cuidado de que no excedan de dos o tres aumentos sobre las dimensiones lineales de nuestra publicación y de que estén dibujados los trazos, guarismos y letras con energía suficientes para que su lectura sea fácil una vez reducidos al tamaño adecuado.

7.^a Los esquemas y fotografías que deban ser considerados a escala, deberán ir acompañados de una clara especificación de los aumentos del original, con objeto de que, una vez hecha la reducción en el grabado, puedan calcularse con exactitud los nuevos aumentos.

8.^a Las ilustraciones, tanto fotografías como dibujos, deberán hacerse teniendo en cuenta el contenido del punto 6.^a de estas advertencias y que han de prestarse, por su claridad, a una reproducción perfecta. En el caso de que algún autor no disponga de elementos adecuados para remitir pruebas fotográficas que llenen tales requisitos, deberá enviarnos los negativos originales, acompañados de una prueba testigo, numerada. Si se trata de microfotografías, pueden remitirsenos las preparaciones para que sean reproducidas en nuestros laboratorios, con indicación en la preparación del campo que interesa fotografiar.

9.^a Los caracteres o tipos a emplear en la impresión deberán determinarse en los originales de la siguiente manera:

Cursiva: _____

VERSALITAS: =====

VERSALES: =====

Negritas: _____

10.^a Cuando se envíen las pruebas al autor, para su corrección, deberá efectuarse ésta en un plazo no superior a diez días, teniendo en cuenta que cualquier modificación que altere el texto original sólo podrá hacerse previa consulta a nuestra Junta de publicaciones, ya que los originales entregados para su publicación a este Instituto se consideran siempre como definitivamente redactados.

11.^a Aquellos originales que no se ajusten a las normas precedentes podrán ser desechados por la Junta de publicaciones o, en caso de que ésta decida rehacer algunos esquemas o gráficos en forma apta para su reproducción, se cargarán los gastos que se originen al autor del trabajo.

12.^a Los autores acompañarán, en francés o inglés (o simplemente en castellano), un resumen de su trabajo, que no excederá de una extensión de 10 líneas de nuestro Boletín.

ADVERTENCIAS A MIEMBROS COLABORADORES

Los miembros que se suscriben para el presente año de 1900, han sido ya avisados por correo a fin de que paguen lo que les corresponde.

En consecuencia, se les recuerda que si no han pagado ya, lo hagan lo antes posible.

En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde. En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde.

En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde. En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde.

En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde. En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde.

En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde. En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde.

En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde. En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde.

En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde. En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde.

En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde. En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde.

En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde. En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde.

En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde. En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde.

En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde. En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde.

En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde. En caso de no haber pagado, se les avisará por correo a fin de que paguen lo que les corresponde.

- Málaga en 1951 y consideraciones sobre la variabilidad de su fórmula vetubial»
- 58.—M. OLIVER y F. NAVARRO : «La alacha y la sardina de Baleares. Investigaciones en 1950 y 1951».
 - 59.—F. LOZANO : «Monografía de los Centracántidos mediterráneos, con un estudio especial de la biología, biometría y anatomía de *Spicara smarís* (L.)».
 - 60.—E. JIMENO y A. ARÉVALO : «Acción inhibitoria del ácido pirogálico en la corrosión del hierro por el agua del mar».
 - 61.—P. BALLE : «Fitoplancton de la bahía de Palma de Mallorca (Año 1952)».
 - 62.—B. ANDREU : «Sobre la relación entre el número de branquispinas y la talla en la sardina española (*Sardina pilchardus* Walb.)».
 - 63.—M. OLIVER : «Bionomía de los fondos de 300 a 600 mts. en el Sur y Suroeste de Mallorca...».
 - 64.—F. LOZANO CABO : «Notas sobre una Campaña de prospección pesquera en la Mar Chica de Melilla».
 - 65.—A. FERNÁNDEZ DEL RIEGO y A. RODRÍGUEZ DE LAS HERAS : «Determinación colorimétrica de la alteración del pescado».
 - 66.—FERNANDO LOZANO CABO : «Una campaña de prospección pesquera en Mar Menor (Murcia)».
 - 67.—LUIS BELLÓN † : «Historia Natural del Atún, *Thunnus thynnus* (L.). Ensayo de síntesis».
 - 68.—PEDRO BALLE : «Análisis cualitativo del fitoplancton de la Bahía de Palma de Mallorca en 1953».
 - 69.—JOAQUÍN GÓMEZ DE LLARENA : «Algunos datos sobre sedimentos recogidos por el «Xauen» en la campaña de otoño de 1952».
 - 70.—FRANCISCO HERNÁNDEZ PACHECO : «Características del zócalo continental del Africa Occidental española». (Encuadernado con el boletín número 69.)
 - 71.—Campañas del «Xauen» en los años 1949 y 1950. Registro de operaciones.
 - 72.—GARCÍA PINEDA y DOMINICA MONTEQUI : «Acerca de la sustancia anti-coagulante de las algas rojas.»
 - 73.—A. ROJO LUCIO : «Datos sobre la edad del bacalao (*G. callarias* L.), eglefino (*Melanogrammus aeglefinus* L.), colín (*Pollachius virens* L.) y locha (*Urophycis tenuis* Mitch.), con indicación de las técnicas usadas.»
 - 74.—LUIS LOZANO REY : «Sobre el fomento de la producción pesquera de las aguas marinas y salobres confinadas; en el litoral de España y en el de sus Territorios de Soberanía y de Protectorado.»
 - 75.—A. RODRÍGUEZ DE LAS HERAS, R. LÓPEZ COSTA, F. CABAÑAS, L. RODRÍGUEZ MOLINS y R. BESADA : «Análisis de los fondos de la bahía de Cádiz».
 - 76.—A. ALVARIÑO : «Zooplankton de la Campaña del «Vendaval».
 - 77.—A. ALVARIÑO : «Zooplankton de Terranova». (Encuadernado con el Boletín núm. 76.)

NOTA.—Pedidos y correspondencia al Sr. Secretario del INSTITUTO ESPAÑOL DE OCEANOGRAFÍA, Alcalá, 27. Madrid.

